

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Concentración De Capsaicinoides y Capacidad Antioxidante En Genotipos De Chile Habanero

Por:

MARCO ANTONIO AGUILAR DÁVILA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Concentración De Capsaicinoides y Capacidad Antioxidante En Genotipos De Chile Habanero

Por:

MARCO ANTONIO AGUILAR DÁVILA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:



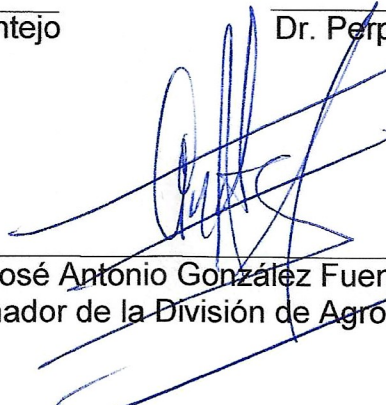
Dr. Josué Israel García López
Asesor Principal



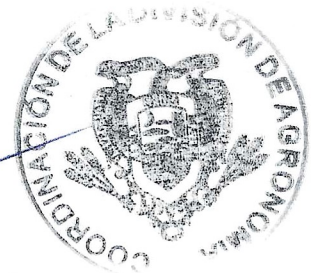
Dr. Neymar Camposeco Montejo
Coasesor



Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez
Coasesor



Dr. José Antonio González Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2022

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior, me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante

gab 7-7

Marco Antonio Aguilar Dávila

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **Dios** por permitirme llegar a concluir mis estudios, principalmente dándome salud, estabilidad emocional y económica, de guiarme siempre por el buen camino, poniéndome buenas personas a lo largo de esta etapa de mi vida.

Gracias por lograr este objetivo profesional.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, mi "**Alma Mater**", Gracias por todas las experiencias vividas a lo largo de esta etapa universitaria, por todos los conocimientos obtenidos tanto profesionales como de vida, siendo mi segunda casa, me siento orgulloso de pertenecer a esta grandiosa y noble institución, llevaré en alto el nombre de la Universidad con honestidad, ética y profesionalismo. Siempre la llevaré en mente y corazón. **"BUTRES POR SIEMPRE".**

Al **Dr. Josué Israel García López**. Agradezco la confianza que puso en mí para la realización de este proyecto, siempre estaré agradecido con usted por toda la paciencia y los conocimientos que me ha brindado. Gracias por todo su apoyo.

Al **Dr. Neymar Camposeco Monteja**. Gracias por ser parte de este proyecto de investigación, por sus consejos y conocimientos brindados en mi etapa estudiantil.

Al **Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez**. Por su valiosa colaboración para la culminación del presente proyecto.

A mis profesores del **Departamento de Fitomejoramiento**. Les agradezco a todos mis profesores por los conocimientos brindados, y por motivarme a ser una mejor persona día con día, y llevar a cabo las labores de agronomía con ética y respeto a la madre tierra.

DEDICATORIAS

A mis queridos padres

Marco Antonio Aguilar García y Yeny Dávila Cabrera

Siempre estaré eternamente agradecido con ustedes por toda la confianza y cariño que han puesto en mí, y por apoyarme siempre en mis planes de vida. Este logro profesional también es de ustedes, sin su apoyo incondicional que realizaron durante mi etapa profesional no sería posible.

Quiero que sepan que conmigo siempre van a contar, y la promesa de salir adelante y ser alguien en la vida la vamos a lograr. Los sacrificios que hicieron no serán en balde, todo lo que se siembra se cosecha y ustedes conmigo cosecharán muchas cosas buenas, vamos a lograr todos los sueños que un día nos propusimos.

En mente y corazón siempre estarán presentes.

“GRACIAS”

A mis queridas hermanas

Viridiana Aguilar Dávila y Valeria Aguilar Dávila.

Aunque la distancia nos impida estar juntos, quiero que sepan que siempre tendrán un hermano con quien contar, mi apoyo para ustedes siempre estará presente pese a cualquier situación. Sigán con sus sueños de ser unas personas profesionistas, recuerden que en la vida nada es imposible y todo llega en su momento. Que este logro les sirva como inspiración y motivación para su carrera profesional.

Las quiero mucho.

A mi mamá:

Predesvinda García Saucedo.

Agradezco por su paciencia, apoyo incondicional ante todas las circunstancias, por siempre preocuparse y estar pendiente de mí.

A mis tíos

- Ramiro Gutiérrez Cruz

- Aida Aguilar García
- Mario Aguilar García

Les agradezco por el apoyo que me han brindado desde que era un niño, por verme como un hijo, y por todos sus consejos.

Gracias

A mis primos

- Miguel Ángel Gutiérrez Aguilar
- Alejandro Gutiérrez Aguilar
- Mario Aguilar Mora

Les agradezco por todos los momentos que hemos vivido desde la infancia y por todas las anécdotas vividas a lo largo de todo este tiempo. Siempre nos vamos a ver como hermanos, espero en Dios nunca cambie nuestra situación y seguir compartiendo nuevas experiencias.

Les deseo de corazón que cada uno de ustedes cumplan con todas las metas que se propongan.

Mucho éxito.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.....	3
Hipótesis	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
Importancia del chile habanero	4
Concentración de capsaicinoides del chile habanero y su importancia	5
Localización de los capsaicinoides en el fruto de chile habanero	6
Genes involucrados en la expresión de capsaicinoides.....	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Material genético y producción de plántula	13
Establecimiento y manejo del cultivo	14
Análisis fisicoquímicos de los frutos de chile habanero	15
Análisis funcionales.....	15
Extracción de capsaicinoides.....	15
Cuantificación de capsaicina y dihidrocapsaicina por HPLC.....	16
Determinación de las unidades de Scoville.....	16
Extracción de compuestos fenólicos	17
Fenoles totales.....	17
Flavonoides totales	17
Carotenoides totales	18
Antocianinas totales.....	18
Capacidad antioxidante.....	19
DPPH	19
ABTS.....	19

FRAP	19
Diseño experimental y análisis estadístico.....	20
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
Contenido de capsaicinoides	21
Contenido de polifenoles y carotenoides	23
Capacidad antioxidante.....	26
5. CONCLUSIONES	28
6. LITERATURA CITADA	29

ÍNDICE DE CUADROS

Figura 1. Contenido de capsaicina (A), dihidrocapsaicina (B), capsaicinoides totales (C) y Scoville Heat Units SHU (D) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).	22
Figura 2. Cromatograma de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila.....	23
Figura 3. Contenido de fenoles totales (A), flavonoides totales (B), carotenoides totales (C) y antocianinas totales (D) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).	24
Figura 4. Capacidad antioxidante de DPPH (A), ABTS (B) y FRAP (C) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Contenido de capsaicina (A), dihidrocapsaicina (B), capsaicinoides totales (C) y Scoville Heat Units SHU (D) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).	22
Figura 2. Cromatograma de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila.....	23
Figura 3. Contenido de fenoles totales (A), flavonoides totales (B), carotenoides totales (C) y antocianinas totales (D) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).	24
Figura 4. Capacidad antioxidante de DPPH (A), ABTS (B) y FRAP (C) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).	27

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el contenido de compuestos bioactivos (capsaicinoides, polifenoles y la capacidad antioxidante) en ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila, México, identificados como HNC-1, HNC-2, HNC-3, HNC-4, HNC-5, HNC-6, HNC-7 y HCC-8. Las plantas de los genotipos se cultivaron en un invernadero durante 127 días, bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones cada uno. Los resultados de los análisis químicos permitieron identificar que HNC-5 y HNC-6 presentaron la mayor concentración de capsaicina (931.38 y 959.77 mg kg⁻¹), dihidrocapsaicina (434.95 y 445.89 mg kg⁻¹), y Unidades Scoville superiores a 210,000, fenoles totales (67.54 y 71.15 mg/100 g) y flavonoides totales (34.21 y 38.29 mg/100 g), respectivamente. Mientras que HNC-1 y HNC-6 presentaron la mayor concentración de carotenoides con 103.96 y 105.07 mg/100 g, y HCC-8 registró el mayor contenido de antocianinas con 22.08 mgC3GE/100 g.

Las capacidades antioxidantes mostraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre genotipos, con un rango de 43.22 a 110.39 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$, 72.37 a 186.56 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$, y 191.41 a 244.98 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$ para los ensayos de DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) y FRAP (Poder antioxidante reductor Férrico). Los resultados de esta investigación, se utilizarán para seleccionar genotipos de chile habanero que puedan ser utilizados en programas de mejoramiento genético para aumentar el potencial productivo y el contenido de compuestos bioactivos en los frutos para ampliar sus aplicaciones en la industria alimentaria.

Palabras clave: *Capsicum chinense* Jacq, pungencia, compuestos bioactivos, capacidad antioxidante.

1. INTRODUCCIÓN

México es uno de los principales centros de origen y domesticación del género *Capsicum* (Olguín-Rojas *et al.*, 2019). A la fecha, se han descrito 32 taxones, de los cuales cinco se consideran para ser domesticados y cultivados: *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L., *C. pubescens* y *C. chinense* Jacq (Muñoz-Ramírez *et al.*, 2020). El chile habanero (*C. chinense* Jacq.) es una especie dentro de este género que tiene la mayor demanda del mercado, y es uno de los chiles con mayor pungencia en el mundo (García-López *et al.*, 2019). Los ingredientes derivados del chile habanero, además de ser utilizados como condimento, aportando pungencia, color y sabor característicos, podrían utilizarse para la conservación y prolongación de la vida útil de los productos industriales, así como aditivos o ingredientes tecnológicos con actividades antioxidantes y antimicrobianas (Baenas *et al.*, 2018).

Por otra parte, se han desarrollado nuevos productos con fórmulas farmacéuticas para el tratamiento de condiciones inflamatorias, ya que los chiles habaneros contienen altos niveles de capsaicinoides, carotenoides, compuestos fenólicos, vitamina C y A, y minerales, como hierro y calcio, que tienen un potencial de promoción para la salud humana (Baenas *et al.*, 2018). En México, hay una tendencia regional en cuanto a preferencias de producción y consumo de chile habanero, las principales zonas de producción se ubican en los estados de Yucatán, Campeche y Quintana Roo (González de Peredo *et al.*, 2020). Sin embargo, a pesar de la importancia económica, social y cultural del cultivo, se han realizado pocos esfuerzos en desarrollar variedades mejoradas de chiles habaneros para aumentar el rendimiento y el contenido de compuestos bioactivos en los frutos (polifenoles y carotenoides), y que además puedan ser cultivados en otras regiones de México y/o en otras partes mundo (Muñoz-Ramírez *et al.*, 2020).

Actualmente, existe un gran interés por desarrollar la explotación comercial de este cultivo en el noreste de México, ya que, según el Servicio de Información

Agroalimentaria y Pesquera de México, de las 1134 ha sembradas en 2020, el 8% se cultivó en los estados de Coahuila, Chihuahua, Nuevo León, Tamaulipas y Aguascalientes, con un rendimiento medio de 18 toneladas por ha (SIAP, 2020). No obstante, la demanda creciente y las exigencias del mercado del chile habanero son cada vez mayores (García-López *et al.*, 2018).

Por lo tanto, se necesita de la creación de nuevas técnicas y tecnologías que permitan incrementar los rendimientos de chile habanero por unidad de superficie cultivada, y que además cumplan las expectativas tanto de productores como consumidores, una de estas técnicas es el mejoramiento genético vegetal, método que ha sido ampliamente utilizado desde tiempos prehispánicos para mejorar la producción de alimentos para la humanidad. En *Capsicum*, como en otras especies hortícolas, la obtención de variedades se ha realizado generalmente a través de la evaluación y selección de genotipos promisorios dentro de las poblaciones y la diversidad genética existente (López-Espinosa *et al.*, 2018), o bien, siguiendo los esquemas de la mejora genética clásica e hibridación.

En este sentido, utilizar la diversidad genética existente para la generación de variedades mejoradas de chile habanero que puedan adaptarse a las nuevas condiciones agroclimáticas locales y regionales para potenciar alta productividad, resulta de gran importancia. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido de compuestos bioactivos (capsaicinoides, polifenoles y la capacidad antioxidante) en ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila, México, para seleccionarlos e incluirlos en programas de mejoramiento.

Objetivo

Determinar la concentración de capsaicinoides, polifenoles y capacidad antioxidante en genotipos de chile habanero.

Hipótesis

Hi: Por la diversidad genética de los habaneros en estudio, existen diferencias entre genotipos en cuanto a la concentración de capsaicinoides, polifenoles y capacidad antioxidante en los frutos que producen.

Ho: No existen diferencias entre los genotipos de chile habanero en cuanto a la concentración de capsaicinoides, polifenoles y capacidad antioxidante en los frutos que producen.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del chile habanero

El chile es considerado como una de las hortalizas más importantes a nivel mundial, esto debido a su alta rentabilidad y a su versatilidad que permite elaborar diferentes alimentos, así como productos destinados para la industria farmacéutica como medicamentos y pomadas; además gracias a su gran aporte nutritivo cada año la demanda por este fruto aumenta de manera considerable dependiendo de la variedad y de la época del año (Borges-Gómez *et al.*, 2014). En México existen más de 100 variedades de chile de los cuales los más comunes son el chile verde, el habanero, el pimiento morrón, el jalapeño y el chile poblano, los cuales se producen en más de 150 mil hectáreas divididas a lo largo de casi de toda la República, donde estados como Chihuahua, Zacatecas, San Luis Potosí y Michoacán son los principales productores con un total de más de dos millones de toneladas de chile al año, equivalentes al 77 por ciento del volumen total a nivel nacional, mientras que el resto se produce en Quintana Roo y Yucatán, entre otros.

Hay que señalar que la producción de chile en el país es considerada una de las actividades económicas primarias más importantes, ya que cada año su producción genera más de 22 mil millones de pesos, lo cual además de beneficiar la economía de los más de 12 mil productores que hay en México, ayuda a generar trabajo para más de 30 millones de jornaleros los cuales se encuentran distribuidos a lo largo de todo el territorio nacional (Soria *et al.*, 2002). Así mismo, debido a sus distintas propiedades, el chile habanero es utilizado en rubros diferentes como la gastronomía, la medicina dentro de la cual se utilizan sus componentes para fabricar pomadas o ungüentos que alivian los severos dolores causados por la artritis, dentro de la industria química se utiliza para realizar la base de algunas pinturas, así como para fabricar algunos gases lacrimógenos (Soria *et al.*, 2002).

Concentración de capsaicinoides del chile habanero y su importancia

Los capsaicinoides son compuestos fenólicos, amidas derivadas de ácidos grasos, que tienen entre nueve y 11 átomos de carbono. El 90 por ciento de este picor está dado principalmente por dos capsaicinoides: la capsaicina y la dihidrocapsaicina (Aza-González *et al.*, 2011). Las principales diferencias entre los varios tipos de capsaicinoides son la longitud de la cadena, la presencia o ausencia de doble enlace, el punto de ramificación y su picor relativo (Vázquez-Flota *et al.*, 2007). La principal característica de los capsaicinoides es su picor. Esta propiedad es consecuencia de la capacidad de los mamíferos para percibir la capsaicina y otros compuestos relacionados, nombrados en conjunto vainilloides. Una de las cuestiones importantes en el estudio de los capsaicinoides es conocer en qué parte del fruto se producen estos compuestos (Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

El contenido de capsaicinoides en chile habanero depende de muchos factores, los cuales están generalmente relacionados con los procesos de biosíntesis genéticamente regulados y con ciertas variables de cultivo tales como el estado nutricional de la planta, las condiciones ambientales y el estado de desarrollo del fruto. Uno de los principales usos de este fruto es como materia prima en la elaboración de salsas y otros derivados comestibles. Éstos generalmente son caracterizados por la elevada pungencia impartida por este chile. No obstante, existe interés comercial de desarrollar tratamientos o procesos que permitan el control del nivel de pungencia de los productos elaborados a base de este chile (Zewdie y Bosland, 2000).

La deshidratación osmótica consiste en la inmersión de frutas o vegetales en disoluciones acuosas de alta concentración de azúcares o sales, en donde se verifican tres fenómenos de transferencia de masa: el flujo de agua desde el alimento a la disolución, la transferencia de soluto desde la disolución al alimento y la transferencia de solutos del alimento hacia la disolución (azúcares, ácidos orgánicos, minerales, vitaminas, entre otros) (Ochoa-Alejo, 1993). Este último grupo de compuestos que se movilizan, aunque es poco importante cuantitativamente,

puede modificar algunas características organolépticas del alimento, como el color, el olor o el sabor.

Localización de los capsaicinoides en el fruto de chile habanero

La pungencia es una característica distintiva de los chiles y es causada por la acumulación de capsaicina (alcaloide) y sus análogos (Tanaka *et al.*, 2016). Los capsaicinoides son amidas producidas por especies de *Capsicum*, estos metabolitos secundarios son responsables del sabor y el picor de los frutos, también conocido como pungencia. Los capsaicinoides consisten en compuestos que difieren en la estructura del resto de los ácidos grasos ramificados (acilo) unidos al anillo de benceno de vainillilamina (Aza-Gonzalez *et al.*, 2011). Estos compuestos son capsaicina, dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, y homocapsaicina, cualquier variación en las estructuras químicas de los capsaicinoides, afecta el grado y el nivel de pungencia (Wang *et al.* 2011).

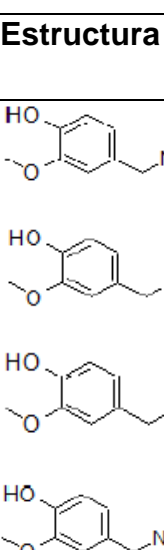
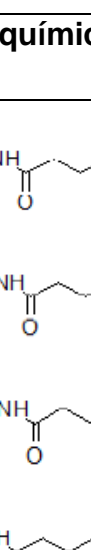
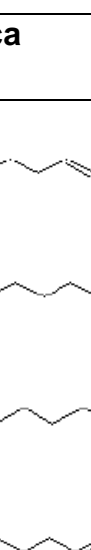
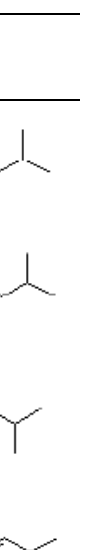
Los capsaicinoides se sintetizan en la placenta de los frutos por una condensación enzimática de vainillilamina y ácidos grasos de cadena ramificada de longitud media (Curry *et al.* 1999). La vainillilamina se origina a partir de la ruta fenilpropanoide y el ácido graso de cadena ramificada deriva del metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada (Mazourek *et al.*, 2009). La enzima clave que conduce a la producción de capsaicinoides es la capsaicina sintasa (CS), una enzima aciltransferasa involucrada en la condensación de vanililamina con el resto de ácidos grasos de cadena corta (Díaz *et al.*, 2004; Stewart *et al.*, 2007).

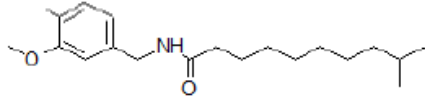
Los capsaicinoides se acumulan en las células epidérmicas de la placenta y en los tejidos disépticos de la fruta de *Capsicum* (Iwai *et al.*, 1979). Estos compuestos se transportan fuera de las células epidérmicas y se almacenan en las vesículas de la placenta. Las semillas no producen capsaicina (Díaz *et al.*, 2004; Stewart *et al.*, 2007; Aza-González *et al.*, 2011). Los capsaicinoides comienzan a acumularse cuando las frutas comienzan a madurar (Suzuki *et al.* 1980)

aproximadamente 20 días después de la antesis (Iwai *et al.*, 1979). La presencia de capsaicinoides en esos órganos sugiere que los capsaicinoides se translocan desde la placenta al tejido del pericarpio a través de las paredes celulares de la capa epidérmica de la placenta (Broderick y Cooke, 2009).

La capsaicina y dihidrocapsaicina son los dos capsaicinoides principales que se encuentran en los chiles picantes (más del 90% del total de capsaicinoides), mientras que la nordihidrocapsaicina, la homodihidrocapsaicina y la homocapsaicina están presentes en cantidades más bajas (Cuadro 1) (Howard y Wildman, 2007). Los niveles de capsaicinoides totales se pueden convertir en unidades de picor Scoville (SHU), que es una medida de la pungencia (calor picante) de los chiles, que está en función de la concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina. La SHU se puede clasificar en: (1) no picante (0–700 SHU), (2) levemente picante (700–3000 SHU), (3) moderadamente picante (3000–25,000 SHU), (4) altamente picante (25,000–70,000 SHU) y (5) muy picantes (>80,000 SHU) (Zachariah y Gobinath, 2008).

Cuadro 1. Estructuras químicas y niveles de pungencia de derivados de capsaicinoides y capsinoidesa.

Compuesto	Cantidad Relativa	Unidades (SHU)	Estructura química
Capsaicina	69%	15,000,000	
Dihidrocapsaicina	22%	15,000,000	
Nordihidrocapsaicina	7%	9,100,000	
Homocapsaicina	1%	8,600,000	

Homodihidrocapsaicina	1%	8,600,000	
-----------------------	----	-----------	--

Es importante mencionar que en los últimos años, el chile habanero (*C. chinense*) se ha vuelto cada vez más importante como resultado de su amplia diversidad y su alto contenido de compuestos antioxidantes (capsaicinoides y compuestos fenólicos) en los frutos, con una demanda creciente en los mercados mexicanos e internacionales. Sin embargo, la acumulación de estos compuestos en los frutos de chile habanero depende de factores ambientales, que incluyen el tipo de suelo, las propiedades osmóticas y nutrimentos aplicados durante el desarrollo del cultivo; este último es el menos estudiado (Soria-Fregoso *et al.*, 2002).

En la agricultura moderna, el nitrógeno (N) es considerado el nutriente comúnmente más deficiente seguido del fósforo (P) (Halvin *et al.*, 2005). En *Capsicum*, la deficiencia de N afecta el rendimiento de crecimiento de la planta y la acumulación de metabolitos secundarios, como la capsaicina (Medina-Lara *et al.*, 2008). Los cambios en los niveles de metabolitos secundarios tienen un impacto en las propiedades organolépticas y nutritivas de las plantas (Urrea-López *et al.*, 2014), y están implicados en la protección o la desintoxicación de altos niveles de salinidad y las condiciones de deficiencia de macronutrientes (Dixon y Paiva, 1995; Mansour, 2000).

Algunos autores mencionan que el régimen de fertilización afecta las concentraciones de metabolitos secundarios como la capsaicina y compuestos fenólicos (Bryant *et al.*, 1987; Gerson y Kelsey 1999). Por ejemplo, en estudios realizados por Medina-Lara *et al.* (2008), la fertilización con nitrógeno (N) en plantas de chile habanero resultó en la producción de frutos con mayor contenido de capsaicina y en general mejoró la calidad de los frutos, mientras que la fertilización con potasio (K) no afectó el contenido de capsaicina por encima de los valores obtenidos en el tratamiento de control. De manera similar, el contenido de capsaicina también se incrementó en los frutos de *C. annum* var. Padrón, por la

fertilización con 13N-40P-13K durante el período de crecimiento vegetativo (Estrada *et al.*, 1999). Johnson y Decoteau (1996), mencionaron que no observaron ningún efecto de K sobre la pungencia en los frutos de *C. annuum*, lo que sugiere que K aparentemente no interfiere en la metabolización de la capsaicina.

A diferencia del N, que es requerido por los aminoácidos como la fenilalanina y la vainillilamina (principales precursores en la ruta de capsaicinas y compuestos fenilpropanoides) que requieren de un nivel óptimo de este elemento (N), para mejorar el rendimiento y la acumulación de compuestos bioactivos y nutraceuticos en los frutos de *Capsicum* (Mendes *et al.*, 2016). Sin embargo, el efecto de la nutrición mineral y las condiciones de desarrollo del cultivo, sobre el contenido de capsaicinoides ha sido contrastante en diferentes estudios realizados. Por ejemplo, Dzib-Echeverria y Uribe Valle (2005), encontraron que las plantas de chile habanero cultivadas en condiciones controladas de riego y fertilización (agricultura protegida), producen frutos con menor cantidad de capsaicina, en comparación con plantas cultivadas en condiciones más estresantes.

Harvell y Bosland (1997), mencionaron que la expresión fenotípica de la pungencia puede ser producida por la interacción de genotipo-ambiente. Urrea-López *et al.* (2014), al evaluar el desarrollo de plantas de chile habanero en condiciones de salinidad (4 y 7 dS mL⁻¹) con nitrógeno reducido y condiciones de fósforo (P), los niveles de capsaicina y dihidrocapsaicina fueron más altos para los tratamientos de alta salinidad (179.9 mg/100 g a 7 dS m⁻¹) y se redujeron en la concentración baja de P (66.4 mg / 100 g). Por su parte, Borges-Gómez *et al.* (2008), mencionaron que el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina no se vió afectado en frutos de chile habanero provenientes de plantas que fueron cultivadas con diferentes niveles nutrimentales de N, P₂O₅ y K₂O (240-240-240, 120-120-120 y 000-000-000). La acumulación de capsaicinoides también ha sido Informados en otros generos de *Capsicum* bajo regímenes de fertilización.

Los resultados obtenidos por Johnson y Decoteau (1996), indicaron mayores contenidos de capsaicinoides al aumentar N y K en chile jalapeño (*Capsicum annum* L.). Por el contrario, Velasco-Velasco *et al.* (2001) mencionaron que al incrementar el suministro de N, P y K en chile jalapeño (*C. annum* L.) la producción de capsaicina disminuyó. Aunque se han realizado estudios para determinar el efecto de la nutrición con N, P y K en la producción de capsaicinoides en frutos de *C. chinense* (Dzib-Echeverria y Uribe Valle, 2005; Medina-Lara *et al.*, 2008; Urrea-López *et al.*, 2014), se recomienda continuar con estudios bioquímicos y a nivel molecular, que evalúen el efecto de la nutrición con diferentes fertilizantes (N, P y K), con el fin comprender de mejor manera el impacto que pueden ocasionar en la acumulación de importantes metabolitos secundarios en los frutos de *C. chinense*.

Genes involucrados en la expresión de capsaicinoides

Como se mencionó anteriormente, los capsaicinoides se sintetizan a través de la combinación de dos rutas biosintéticas: la ruta del fenilpropanoide y la ruta de los ácidos grasos ramificados (Aza-Gonzalez *et al.*, 2011). La fenilalanina amonioc-lasas (PAL) es la primera enzima en la ruta de fenilpropanoides, en la que se forma ácido cinámico a partir de la fenilalanina 4, seguida de cinamato 4-hidroxilasa (C4H), 4-Coumarate: Coenzima A Ligase (4CL), hidroxicinil transferasa (HCT), cumarate3-hidroxilasa (C3H), cafeína-CoA 3-O-etiltransferasa (CCoAOMT), y una aminotransferasa putativa (pAMT) para formar vainillilamina (Stewart *et al.*, 2005). En la ruta de síntesis de ácidos grasos ramificados, el precursor 8-metil-6-nonenoil-CoA se produce a través del ciclo de síntesis de ácidos grasos mediante una serie de varias reacciones enzimáticas (Suzuki *et al.*, 1981).

Al final, la vainillilamina y 8-metil-6-nonenoil-CoA, que se producen como dos cadenas ramificadas, que se convierten en capsaicina por acil-transferasa (AT) (Sukrasno y Yeoman, 1993). La ruta de los ácidos grasos de cadena ramificada contribuye a la producción del aroma de frutos de chile picante, como es el caso de

C. chinense, particularmente por los ésteres de ácidos grasos ramificados presentes en las accesiones picantes que pueden reflejar la actividad a través de la rama acilo de la ruta metabólica que conduce a la síntesis de capsaicinoides (Wahyuni *et al.* 2013). La capsaicina generalmente representa alrededor del 70% del total de capsaicinoides (Ravishankar *et al.*, 2003). La vía principal de la síntesis de capsaicina según Mazourek *et al.* (2009), incluye el metabolismo de fenilpropanoides y bencenoides, así como la biosíntesis de ácidos grasos de cadena ramificada de mediana longitud y el metabolismo de L-valina.

Se predice que un total de 79 genes codifican enzimas involucradas en la biosíntesis de la capsaicina (Zi-Xin *et al.*, 2016). Existen dos grupos de genes que se agruparon y cuyos patrones de expresión se correlacionaron con la acumulación de capsaicina, estos incluyen: fenilalanina amoniaco liasa (PAL), ácido 4-hidroxilasa (C4H), Acyl-CoA sintetasa (ACS), ácido O-metiltransferasa (Comt) y aciltransferasa (AT), y se expresan específicamente en el tejido placentario (Aza-González *et al.*, 2011). El locus Pun1, anteriormente conocido como el locus C, codifica una aciltransferasa AT3 putativa, cuyo estado alélico funciona como un interruptor on-off para la pungencia en los chiles. Los cambios biológicos y morfológicos en la durante el desarrollo del fruto son acompañado por diferencias en los patrones de expresión génica (Wahyuni *et al.* 2013).

Los rasgos cuantitativos que controlan los procesos de desarrollo capsaicina en los frutos de *C. chinense*, están influenciados por muchos genes con pequeños efectos. Por ejemplo, la producción de ácido cinámico a partir de fenilalanina es catalizada por PAL, la formación y acumulación de PAL están involucrados en la biosíntesis de capsaicina, lo que sugiere que estos genes desempeñan un papel importante en la vía de síntesis de la capsaicina y contribuyen a la acumulación de capsaicinoides (Ochoa-Alejo y Gómez-Peralta, 1993). ACS es la enzima que cataliza la etapa final en la ruta de los ácidos grasos de cadena ramificada, en la que se forma 8-metil6-nonenoil-CoA a partir del ácido 8-metilpentanoico, estos genes pueden jugar un papel crucial en la regulación de la

síntesis de capsaicina (Thiele *et al.*, 2008). La AT cataliza el paso final en la vía biosintética capsaicina, que es uno de los pasos más importantes, sus niveles de expresión pueden jugar un papel importante en la síntesis y el contenido de capsaicina (Díaz *et al.*, 2004).



Por otra parte, el ácido ferúlico como un intermediario fenilpropanoide que se produce a partir de cafeína-CoA por la acción del enzima cafeína-CoA 3-O-metiltransferasa (CCoAOMT) se correlaciona positivamente con la acumulación de capsaicina (Abraham-Juárez *et al.*, 2008). Numerosas enzimas están involucradas en la ruta de síntesis de ácidos grasos ramificados, incluyendo cetoacil-ACP sintasa I (KAS), malonil CoA-ACP transacilasa (MCAT), proteína transportadora de acilo (ACL), cetoacil-ACP reductasa (KR), hidroxiacil-ACP deshidratasa (DH), enoil-ACP reductasa (ENR) y tioesterasa (TE). Los estudios han demostrado que los genes de la sintasa de ácidos grasos *Ac11*, *FatA* y *Kas* se expresan diferencialmente en las frutas de *Capsicum* y los niveles de transcripción de los tres genes están correlacionados positivamente con el grado de pungencia (Nishida, 2004).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético y producción de plántula

Las semillas de chile habanero (con clave HNC-1, HNC-2, HNC-3, HNC-4, HNC-5, HNC-6 y HNC-7 y HCC-8), pertenecen al germoplasma que resguarda el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Granos y Semillas (CCDTS) de la UAAAN (Cuadro 2). Para la siembra, las semillas se trataron con una solución de ácido giberélico a 250 ppm por 24 h como inductor de germinación, posteriormente, se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades, el sustrato de germinación fue peat moss y perlita en proporción 70:30%, respectivamente.

Cuadro 2. Características de los genotipos de chile habanero seleccionados para el estudio.

Genotipo	Color	Origen	Tipo	Ciclo de selección en Coahuila	Imagen
HNC-1	Naranja	Yucatán	Criollo	2	
HNC-2	Naranja	Jaguar	Selección	3	
HNC-3	Naranja	Jaguar	Selección	3	
HNC-4	Naranja	Jaguar	Selección	3	
HNC-5	Naranja	Yucatán	Criollo	2	
HNC-6	Naranja	Yucatán	Criollo	2	

HNC-7 Naranja Jaguar Selección 3



HCC-8 Chocolate Coahuila Criollo 7



Jaguar. Variedad de polinización abierta con número de registro CHL-008-101109 y Título de Obtentor No. 0664 del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (Meraz *et al.*, 2018).

Establecimiento y manejo del cultivo

El trasplante se realizó el 13 de junio de 2020, y 54 días después de la siembra las plántulas se cultivaron en macetas con capacidad de 10 L utilizando una mezcla de peat moss y perlita en proporción 70:30% como sustrato. El suministro de agua y nutrientes fue por riego localizado a cinco cm de la base del tallo. La solución nutritiva utilizada se muestra en el Cuadro 3 (50% a los cinco días después del trasplante, 75% al inicio de la floración y 100% a la fructificación y llenado), el drenaje fue del 10 %.

Cuadro 3. Solución nutritiva (SN) y porcentajes utilizados en cada una de las etapas fenológicas del cultivo de chile habanero bajo condiciones de invernadero.

% SN	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻		K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Na ⁺
					CO ₃ ²⁻	y				
Miliequivalentes L ⁻¹										
Fructificación-100	12	2	7	3.2	1	2	7	4.2	9	3.1
Floración-75	9	1.5	5.25	3.2	1	1.5	5.25	3.15	6.75	3.1
Trasplante-50	6	1	3.5	3.2	1	1	3.5	2.1	4.5	3.1

Análisis fisicoquímicos de los frutos de chile habanero

De la última cosecha, se seleccionaron cuatro repeticiones de 50 frutos uniformes sin defectos (sin daños físicos y patológicos) para cada una de los genotipos (Elibox, 2015), posteriormente, se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 3% y se secaron en un lugar fresco y ventilado (Simonovska *et al.*, 2016). Del total de frutos seleccionados, 25 frutos fueron utilizados para los análisis funcionales (capsaicinoides, polifenoles y capacidad antioxidante) (Pinedo-Guerrero *et al.*, 2017).

Análisis funcionales

Los frutos de chile habanero fueron cortados en rodajas con un cuchillo y se retiraron las semillas para determinar los compuestos bioactivos y funcionales. Posteriormente, se colocaron en una bolsa de polietileno para hacer una mezcla homogénea, al finalizar las muestras se almacenaron en un ultracongelador (3003 Ultrafreezer Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) a -80 °C hasta su análisis.

Extracción de capsaicinoides

El método de extracción y cuantificación de capsaicinoides se realizó con base en lo establecido por Ryu *et al.* (2017), para ello se pesaron 5 g de muestra de fresca de chile (pericarpio y placenta sin semilla), enseguida se añadieron 25 mL de acetona y se procesaron durante 30 s en una licuadora Oster (M4655-813, Acuña, Coah, Mex). Enseguida, el extracto se llevó a 50 °C durante una hora en una estufa de laboratorio (ON-12G, Jeio Tech, Korea). Después de este período, las muestras se centrifugaron a 4500 rpm durante 5 min, el sobrenadante se recuperó para ser analizado.

Cuantificación de capsaicina y dihidrocapsaicina por HPLC

Para el análisis por HPLC, los extractos con acetona se filtraron con un acrodisco de 0.25 mm con un tamaño de poro de 45 µm y posteriormente se inyectaron 10 µL directamente en el sistema HPLC (Agilent Technologies 1260 Infinity), con bomba cuaternaria (Agilent 1260 G1311B) con auto-muestreador y un detector con arreglo de diodos (DAD, Agilent 1260 G4212B). Además, se utilizó una columna analítica ZORBAX Eclipse Plus C-18 (100 mm x 3 mm de i.d., 5 µm). La fase móvil isocrática consistió en acetonitrilo puro (solvente A) y ácido acético al 1% en agua (solvente B), con un volumen (40:60 v/v) y un caudal de 1 mL min⁻¹ a 25 °C, con un tiempo de corrida 20 min.

La absorbancia se midió a 280 nm. La cuantificación de capsaicina (8-metil-Nvanillil-6-nonenamida) y dihidrocapsaicina (8-metil-N- vanillilnonamida) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) se realizó con base en las curvas de calibración correspondiente, en concentraciones de 0, 80, 160, 240, 320 mg kg⁻¹ (Orellana-Escobedo et al., 2012).

Determinación de las unidades de Scoville

El contenido de capsaicinoides (mg kg⁻¹) se transformó a Unidades Scoville de Picor (SHU), con base en lo establecido por Todd et al. (1977). Las determinaciones de la pugnecencia en SHU se realizaron multiplicando los contenidos individuales de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina) por el valor correspondiente a la intensidad del umbral.

$$[(\% \text{ Capsaicina} \times 16.1) + (\% \text{ Dihidrocapsaicina} \times 16.1)] \times 10,000 = SHU$$

Extracción de compuestos fenólicos

Los extractos se produjeron suspendiendo 5 g de muestra fresca de chile (pericarpio y placenta sin semilla) en 50 mL de metanol al 80 %, la muestra se purgó con flujo de argón por 30 s y se mezcló por 45 s en una licuadora Oster (M4655-813, Acuña, Coah, Mex). Después, las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 5 min y el sobrenadante fue recuperado y almacenado a 4 °C hasta su análisis.

Fenoles totales

Los ensayos de fenólicos totales, flavonoides totales, taninos condensados y de capacidad antioxidante se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Spectronic BioMate3 (Rochester, NY, USA), de acuerdo con lo establecido por López-Contreras *et al.* 2015. Para la determinación del contenido de fenoles, se tomaron 0.2 mL de cada extracto y se agregaron 2.6 mL de agua destilada y 0.2 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 min, se agregaron 2 mL de Na₂CO₃ al 7% y la solución se agitó durante 30 s, para luego llevar la reacción en oscuridad por 90 min, posteriormente se midió la absorbancia de las muestras a 750 nm. La concentración de fenoles se reportó en miligramos equivalente de ácido gálico por cien gramos de muestra (mgGAE/100 g), calculado a partir de la curva de calibración de ácido gálico de 0 a 200 mg L⁻¹.

Flavonoides totales

La determinación del contenido de flavonoides se basó en la reacción del complejo AlCl₃-NaNO₂-NaOH, para esto se tomaron 0.2 mL del extracto y se agregaron 3.5 mL de agua destilada. Posteriormente, se agregaron 0.15 mL de NaNO₂ al 5%, 0.15 mL de AlCl₃ al 10% y 1 mL de NaOH 1 M, a intervalos de 5 min cada uno. La reacción se dejó durante 15 min y después se midió la absorbancia a 510 nm. El contenido total de flavonoides se informó en miligramos de equivalentes

de (+)-catequina por cien gramos de muestra (mgCE/100 g), calculado a partir de la curva de calibración de (+)-catequina de 0 a 200 mg L⁻¹.

Carotenoides totales

La concentración de carotenoides totales se cuantificó de acuerdo con Segura Campos *et al.* (2013). Para ello, 5 g de muestra fresca de chile (pericarpio) se homogeneizaron en 25 mL de acetona y el sobrenadante se decantó. Este proceso se repitió hasta lograr la eliminación completa de todos los pigmentos. La muestra se filtró y se lavó con 30 mL de acetona, la acetona se evaporó y la muestra seca se disolvió en 60 mL de éter de petróleo. La solución resultante se filtró, y posteriormente se transfirió cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml y el volumen se completó con éter de petróleo. De esta solución, se colocaron 2 mL en un tubo de ensayo con 8 mL de éter de petróleo. La absorbancia se leyó a 475 nm, y la concentración se calculó con la curva de calibración de β -caroteno de 0 a 200 mg L⁻¹.

Antocianinas totales

El contenido total de antocianinas se determinó con base en lo establecido por Abdel-Aal y Hucl (1999). Para ello, 5 g de muestra fresca se homogenizó con 25 mL de etanol-HCL 1 N (85:15 v/v, pH 1, 4 °C), se purgó por 30 s con argón y se agitaron a 200 rpm durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 5750xg (4 °C, 15 min) y finalmente, se midieron 3.5 mL de muestra a 535 nm. El contenido de antocianinas se informó como miligramos de equivalentes de cianidina-3-glucósido (C3GE) por cien gramos de muestra (mgC3GE/100 g) como sigue: $C = (A/\epsilon) * (V/1000) * MW * (1/\text{peso de muestra}) * 10^6$, donde: C = concentración en mgC3GE/L, A = absorbancia de muestra, ϵ = absorción molar (mgC3GE = 26,695 1/cm 1/mol), V = volumen de muestra, MW = peso molecular de C3G (449.2 g/mol).

Capacidad antioxidante

DPPH

La capacidad antioxidante de DPPH (2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl) se evaluó utilizando una solución de trabajo 60 μM en metanol al 80%, con una absorbancia ajustada a 0.98 a 517 nm. El ensayo se llevó a cabo mezclando 50 μL del extracto con 1.5 mL de la solución de trabajo DPPH, la reacción se dejó durante 30 min en la oscuridad y se determinó la absorbancia.

ABTS

La capacidad antioxidante de ABTS (ácido 3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfónico) se llevó a cabo utilizando una solución de trabajo obtenida mezclando 1 mL de ABTS al 7.4 mM y 1 mL de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, permitiéndoles reaccionar durante 12 h en oscuridad. Después, la absorbancia de la solución de trabajo se ajustó a 0.97 a 734 nm diluyendo con metanol. El ensayo ABTS se realizó mezclando 50 μL del extracto con 1.5 mL de solución de trabajo ABTS. La reacción se dejó durante 30 min en la oscuridad y se midió la absorbancia.

FRAP

La capacidad antioxidante de FRAP (poder antioxidante reductor férrico) se determinó utilizando una solución de trabajo preparando una mezcla 300 mM $\cdot\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (pH 3.6), 10 mM $\cdot\text{TPTZ}$ (2,4,6-tripirydyl-s-triazine, en HCl 40 mM) y 20 mM de $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en proporción 10:1:1 (V:V:V). El ensayo FRAP se preparó mezclando 50 μL del extracto con 1.5 mL de solución de trabajo FRAP, la reacción se dejó durante 30 min en la oscuridad a 37 °C y la absorbancia de las muestras se tomó a 593 nm. La capacidad antioxidante para los ensayos DPPH, ABTS y FRAP se reportaron en micromoles de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico ácido) equivalente por cien gramos de muestra

($\mu\text{molTE}/100\text{ g}$), con base a la curva de calibración con Trolox en concentraciones de 0 a 500 $\mu\text{mol}/\text{L}$.

Diseño experimental y análisis estadístico

El arreglo experimental fue completamente aleatorizado con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. La diferencia estadística entre genotipos se analizó mediante un análisis de varianza (ANOVA), y las medias se comparó n con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Los resultados se informaron como valores medios de cuatro muestras \pm desviación estándar.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de capsaicinoides

Los resultados obtenidos del análisis del contenido de capsaicinoides en los frutos mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre genotipos (Figura 1). La concentración de capsaicinoides oscilo entre 595.48 y 959.77 mg kg^{-1} (Figura 1A). El contenido más alto se obtuvo en HNC-6 (959.77 mg kg^{-1}), seguido de HNC-5 (931.38 mg kg^{-1}), mientras que HCC-8 se presentó la menor concentración (595.48 mg kg^{-1}). La misma tendencia se presentó en el contenido de dihidrocapsaicina, los genotipos con mayor concentración fueron HNC-6 y HNC-5 con 445.89 y 434.95 mg kg^{-1} , respectivamente (Figura 1B). El análisis cuantitativo de capsaicinoides por HPLC permitió identificar que el mayor contenido de capsaicinoides totales se obtuvo en los genotipos HNC-6 (1405.67 mg kg^{-1}) y HNC-5 (1366.34 mg kg^{-1}), lo que resultó en los mayores niveles de SHU con 226,631 y 219,981, respectivamente (Figura 1 C y D).

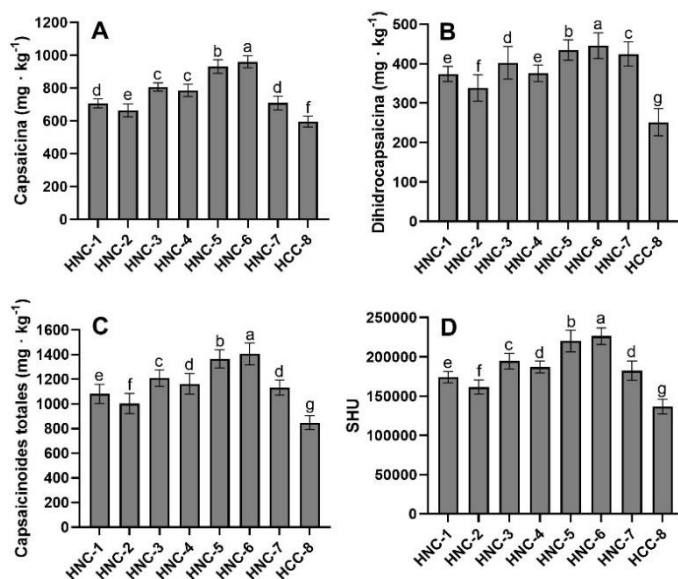


Figura 1. Contenido de capsaicina (A), dihidrocapsaicina (B), capsaicinoides totales (C) y Scoville Heat Units SHU (D) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).

El contenido de capsaicinoides totales fue más elevado que el reportado por Butcher *et al.* (2012) y García-López *et al.* (2019), quienes informaron que las concentraciones de capsaicinoides totales en genotipos de chile habanero fluctuaban entre 757.69 y 952.15 mg kg⁻¹. La pungencia es un atributo excepcional que distingue al chile habanero de otras especies vegetales, está característica permite que se utilice habitualmente en diferentes culturas, gastronomías y procesos industriales, lo que ha generado una demanda creciente en los mercados mexicanos e internacionales (García-López *et al.*, 2019). Sin embargo, la acumulación de capsaicinoides totales en los frutos está determinada por el genotipo y el ambiente de crecimiento (Canto-Flick *et al.*, 2008; Pérez-Ambrocio *et al.*, 2018).

Comúnmente, se utiliza la escala SHU para determinar el picor de los pimientos, el cual depende de la concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina (Orellana-Escobedo *et al.*, 2013). El SHU se puede clasificar como (1) no picante (0-700 SHU), (2) ligeramente picante (700-3,000 SHU), (3) moderadamente picante (3,000-25,000 SHU), (4) muy picante (25,000-70,000 SHU) y (5) extremadamente picante (>80,000 SHU) (Weiss, 2002). Con base en los resultados obtenidos, los frutos de chile habanero de los genotipos en estudio se clasifican como frutas muy picantes, ya que la mayoría supera las 150,000 SHU.

La determinación del contenido de capsaicinoides en los frutos de chile habanero mediante HPLC, se basó en el período de retención y en el tamaño del pico de cada capsaicinoide presente, que se identificó por el espectro de absorción y la comparación con los períodos de retención de los estándares comerciales para cada compuesto (Canto-Flick *et al.*, 2008; García-López *et al.*, 2019). Los cromatogramas obtenidos mostraron dos picos principales, identificados como

capsaicina y dihidrocapsaicina, que registraron una diferencia de 3.25 min entre los períodos de retención de la capsaicina (6.24 min) y la dihidrocapsaicina (9.49 min) (Figura 2).

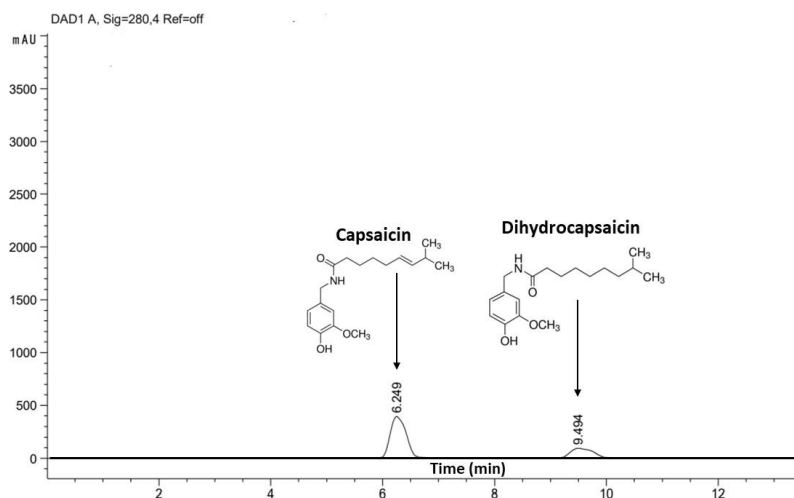


Figura 2. Cromatograma de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila.

Contenido de polifenoles y carotenoides

Los resultados indicaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre genotipos en el contenido de polifenoles totales (fenoles, flavonoides y antocianinas) y carotenoides en los frutos (Figura 3). Los genotipos HNC-5 y HNC-6, presentaron los niveles más altos de fenoles totales (67.54 y 71.15 mgGAE/100 g, respectivamente) y flavonoides totales (34.21 y 38.29 mgCE/100 g, respectivamente), mientras que las concentraciones más bajas se obtuvieron en HNC-2 con 34.87 mgGAE/100 g y 11.40 mgCE/100 g, respectivamente (Figura 3A y B). Los valores obtenidos para la mayoría de las muestras están de acuerdo con los resultados reportados por Iqbal *et al.* (2013-2016), quienes evaluaron genotipos de chiles picantes cultivados en Instituto de Ciencias Hortícolas (Universidad de Agricultura, Faisalabad, Pakistán) e informaron valores en un rango de 11.90 a 67.90 mg/100 g.

El contenido de polifenoles en los frutos varía ampliamente durante el crecimiento y maduración, además, determinan la acritud de la fruta, amargura, sabor y color (Campos *et al.*, 2013). En este estudio, los genotipos de colores más intensos (HNC-6 y HCC-8) presentaron el mayor contenido de polifenoles (flavonoides y antocianinas), lo que concuerda con informes previos que registraron un alto contenido de fenoles en genotipos de *C. chinense* con frutos de color naranja-marrón y deep red (Castro-Concha *et al.*, 2014; Ribes-Moya *et al.*, 2018).

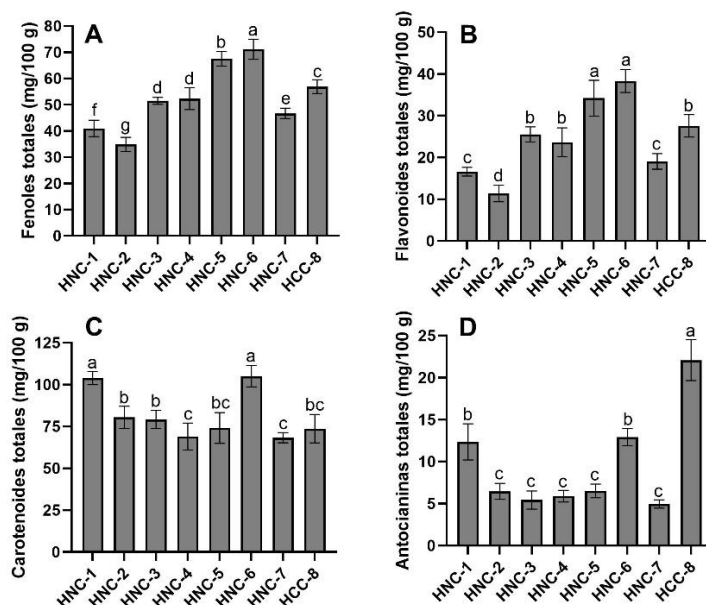


Figura 3. Contenido de fenoles totales (A), flavonoides totales (B), carotenoides totales (C) y antocianinas totales (D) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).

El contenido de carotenoides vario de 68.27 a 105.07 mg/100 g. Entre los niveles más altos de carotenoides se identificaron a los genotipos HNC-1 y HNC-6 con 103.96 y 105.07 mg/100 g, mientras que las concentraciones más bajas se registraron en HNC-4 y HNC-7 (69.02 y 68.27 mg/100 g, respectivamente). Los resultados de esta investigación, concuerdan con los valores promedios (34.97 a 118.22 mg/100 g) que se han informado en diferentes genotipos de chiles picantes

(Iqbal *et al.*, 2016), con pigmentaciones del fruto que van del amarillo, naranja, rojo y/o rojo oscuro.

Específicamente, el chile rojo es único por su alto contenido y composición en xantofilas, principalmente está constituido por carotenoides amarillos entre los que destacan el β -caroteno, violaxantina, antheraxantina, zeaxantina y los cetocarotenoides de color rojo intenso característicos, que son capsantina, capsorrubina y capsantina-5,6-epóxido, además de antocianinas (Arnnok *et al.*, 2012). En los chiles de amarillo/naranja, los principales carotenoides incluyen luteína, β -caroteno, violaxantina, antheraxantina, zeaxantina y β -criptoxantina (Rodríguez-Uribe *et al.*, 2014; Gómez-García *et al.*, 2013).

Los carotenoides y/o polifenoles son considerados los antioxidantes más importantes del chile, ya que actúan sinérgicamente como captadores de radicales libres, al donar átomos de hidrógeno para formar radicales relativamente estables (Chávez-Mendoza *et al.*, 2015), lo que permite prevenir el daño oxidativo. El contenido de antocianinas en los frutos de chile presentó un rango de 4.95 a 22.08 mgC3GE/100 g. El mayor contenido de antocianinas se registró en el genotipo HCC-8 (22.08 mgC3GE/100 g), seguido de HNC-6 y HNC-1 (12.91 y 12.35 mgC3GE/100 g), mientras que la concentración más baja se obtuvo en HNC-7 (4.95 mgC3GE/100 g). Los resultados fueron similares a la concentración promedio (3.20 a 27.8 mg/100 g) reportada en diferentes genotipos de chile con frutos de color amarillo, naranja y rojo (Arnnok *et al.*, 2012; Padilha *et al.*, 2015).

En algunas especies de chiles picantes, el color púrpura lo proporciona la acumulación de antocianinas (Turturică *et al.*, 2015), las cuales son benéficas para la salud humana, debido a sus propiedades antioxidantes que potencialmente podrían prevenir enfermedades nocivas como el cáncer, problemas cardiovasculares e incluso neurodegenerativos (Genskowsky *et al.*, 2016). Además, las antocianinas extraídas de semillas y frutos se han utilizado como aditivos alimentarios, principalmente en la producción de mermeladas, dulces y bebidas de

color violeta, estas aplicaciones en la industria alimentaria, ha despertado gran interés en la exploración de frutos con alta concentración de colorantes alimentarios naturales como la antocianina como una alternativa prometedora a los sintéticos tintes alimentarios (Khoo *et al.*, 2017).

En este sentido, el aumento del contenido de antocianinas en los frutos de chile habanero podría mejorar la calidad nutracéutica y, por lo tanto, aumentar el valor del producto. Por otra parte, la concentración de antocianinas determina la calidad poscosecha de algunas flores, frutas y hortalizas, por lo que los mejoradores de plantas han centrado sus esfuerzos en generar cultivos ricos en antocianinas para el mercado (Tanaka y Ohmiya, 2008).

Capacidad antioxidante

Los resultados indican que las capacidades antioxidantes de los frutos mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre genotipos (Figura 4), con un rango de 43.22 a 110.39 $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$, 72.37 a 186.56 $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ y 191.41 a 244.98 $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ para los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente (Figura 4). Independientemente del ensayo, los genotipos HNC-6, HNC-5 y HCC-8 presentaron los niveles más altos de capacidad antioxidante, mientras que HNC-1, HNC-2 y HCC-7 presentaron los valores más bajos. Las correlaciones significativas entre el contenido fenoles totales ($r = 0.94$, 0.95 y $r = 0.88$, respectivamente), flavonoides totales ($r = 0.93$, 0.94 y $r = 0.89$, respectivamente) y la capacidad antioxidante medida por DPPH, ABTS y FRAP, sugieren que los valores de compuestos fenólicos más altos en HNC-6, HNC-5 y HCC-8 está relacionados con una mayor capacidad antioxidante.

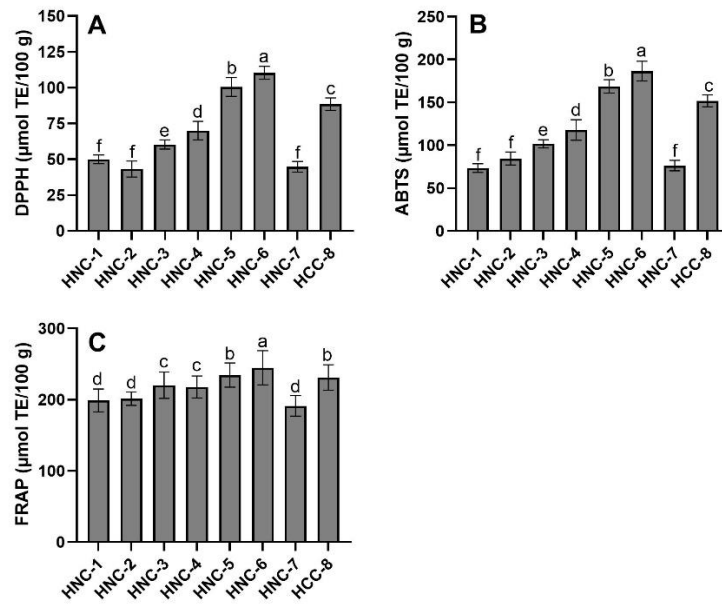


Figura 4. Capacidad antioxidante de DPPH (A), ABTS (B) y FRAP (C) en frutos de ocho genotipos de chile habanero cultivados en el sureste de Coahuila. Los valores son el promedio de cuatro repeticiones. Medias (n = 4).

Estudios previos, han documentado que existe una fuerte correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante, lo que podría deberse al alto contenido de compuestos de tipo flavonoide que contribuyen a la actividad antioxidante en diferentes especies de chiles (Bhandari *et al.*, 2016; García-López *et al.*, 2019; Oney-Montalvo *et al.*, 2020). Por lo tanto, los resultados de esta investigación respaldan que la actividad antioxidante está fuertemente influenciada por la concentración de polifenoles en los frutos de chile habanero evaluados.

5. CONCLUSIONES

En cuanto al contenido de fitoquímicos en los frutos, se confirmó que existe una variabilidad entre genotipos.

En relación al contenido de capsaicinoides, fenoles totales, flavonoides totales y antocianinas totales y la capacidad antioxidante, los genotipos HNC-5, HNC-6 y HCC-8 presentaron los niveles más elevados.

Por lo anterior, las líneas experimentales que destacaron en cuanto al desempeño agronómico (HNC-2, HNC-3, HNC-6 y HNC-7) y el contenido de compuestos bioactivos en los frutos (HNC-5, HNC-6 y HCC-8), se continuarán trabajando como base del Programa de Mejoramiento del CCDTS, con la finalidad de generar genotipos con alto potencial productivo que puedan ser utilizados en la industria agroalimentaria de la región sureste de Coahuila.

6. LITERATURA CITADA

- Abraham-Juárez, M., Rocha-Granados, M. López, M.G. Rivera-Bustamante, R.F. Ochoa-Alejo, N. 2008. Virus-induced silencing of Comt, pAmt and Kas genes results in a reduction of capsaicinoid accumulation in chili pepper fruits. *Planta* 227(3):681-695.
- Arnnok, P., Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongstien, S., and Chanthai, S. 2012. Determination of total phenolics and anthocyanin contents in the pericarp of hot chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *International Food Research Journal*, 19(1).
- Aza-González, C., Núñez-Palenius, H.G. and Ochoa-Alejo, N. 2011. Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum spp.*). *Plant Cell Rep* 30(5):695-706.
- Baenas, N., Belović, M., Ilic, N., Moreno, D. A., and García-Viguera, C. 2019. Industrial use of pepper (*Capsicum annum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages. *Food chemistry*, 274, 872-885.
- Bhandari, S. R., Bashyal, U., and Lee, Y. S. 2016. Variations in proximate nutrients, phytochemicals, and antioxidant activity of field-cultivated red pepper fruits at different harvest times. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 57(5), 493-503.
- Borges-Gómez, L., Cervantes-Cárdenas, L. Ruiz-Novelo, J. Soria-Fregoso, M. Reyes-Oregel, V. y Villanueva-Couoh, E. 2008. Capsaicinoides en chile habanero (*Capsicum chinense* jacq.) bajo diferentes condiciones de humedad y nutrición. *Terra Latinoamericana* 28(1):36-41.
- Broderick, C.E., and Cooke, P.H. (2007). Fruit composition, tissues, and localization of antioxidants and capsaicinoids in *Capsicum* peppers by fluorescence microscopy.

In II International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables: FAVHEALTH 841 (pp. 85-90).

Bryant, J.P., Clausen, T.P. Reichardt, P.B. McCarthy, M.C. and Werner R.A. 1987. Effect of nitrogen fertilization upon the secondary chemistry and nutritional value of quaking aspen (*Populus tremuloides* Michx.) leaves for the large aspen tortrix [*Choristoneura conflictana* (Walker)]. *Oecologia* 73:513-517.

Butcher, J.D., Crosby, K.M., Yoo, K.S., Patil, B.S., Ibrahim, A.M.H., Leskovar, D.I., and Jifon, J.L. 2012. Environmental and genotypic variation of capsaicinoid and flavonoid concentrations in Habanero (*Capsicum chinense*) peppers. *HortScience*, 47(5), 574-579.

Campos, M.R.S., Gómez, K.R., Ordo, Y.M., and Ancona, D.B. 2013. Polyphenols, ascorbic acid and carotenoids contents and antioxidant properties of habanero pepper (*Capsicum chinense*) fruit.

Canto-Flick, A., Balam-Uc, E., Bello-Bello, J.J., Lecona-Guzman, C., Solís-Marroquín, D., Avilés-Viñas, S., and Iglesias-Andreu, L.G. 2008. Capsaicinoids content in habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.): hottest known cultivars. *HortScience*, 43(5), 1344-1349.

Castro-Concha, L.A., Tuyub-Che, J., Moo-Mukul, A., Vazquez-Flota, F.A., and Miranda-Ham, M.L. 2014. Antioxidant capacity and total phenolic content in fruit tissues from accessions of *Capsicum chinense* Jacq (Habanero pepper) at different stages of ripening. *The Scientific World Journal*, 2014.

Chávez-Mendoza, C., Sanchez, E., Muñoz-Marquez, E., Sida-Arreola, J.P., and Flores-Cordova, M.A. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in different grafted varieties of bell pepper. *Antioxidants*, 4(2), 427-446.

- ColorHexa. Color Encyclopedia: Information and Conversion. Computer Software. 2020. Available online: <https://www.colorhexa.com/> (accessed on 21 January 2021).
- Commission Internationale De L'eclairage. Cie 15: Technical Report: Colorimetry, Commission Internationale De L'eclairage, 3rd ed.; CIE: Vienna, Austria, 2004. 24.
- Curry, J., Aluru, M. Mendoza, M. Nevarez, J. Melandrez, M. and O'Connell, M.A .1999. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent *Capsicum spp.* Plant Sci 148:47-57.
- Díaz, J., Pomar, F. Bernal, Á. and Merino, F. 2004. Peroxidases and the metabolism of capsaicin in *Capsicum annum* L. Phytochem Rev 3:141-157.
- Dixon, R.A. and Paiva N.L.1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell 7:1085-1097.
- Dzib-Echeverria, R. and G. Uribe Valle. 2005. La fertilidad de los suelos luvisoles ródicos y el uso de fuentes de fertilizantes en chile habanero. Nutrition and water management. Second World Pepper Convention. 2:205-209.
- Elibox, W., Meynard, C. P., and Umaharan, P. 2015. Morphological changes associated with postharvest fruit deterioration and physical parameters for early determination of shelf life in *Capsicum chinense* Jacq. HortScience, 50(10), 1537-1541.
- Escobedo, L.O., Amezquita, L.E.G., Olivas, G.I., Paz, J.O., and Sepúlveda, D.R. 2013. Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili peppers (*Capsicum spp.*) cultivated in the State of Chihuahua. CyTA: Journal of food, 11(2), 179-184.
- Estrada, B., Pomar, F. Díaz, J. Merino, F. and Bernal M.A. 1999. Pungency level in fruits of the Padrón pepper with different water supply. Sci. Hortic. 81: 385-396.

- Fernández, S.D.M., Velázquez, D.M., de Jesús, S.T., Cruz, F.V., Martínez, A.I., y Reyes, J.R.T. 2020. Fenología y contenido de capsaicinoides en chile producidos en condiciones de invernadero. *Revista mexicana de ciencias*.
- García-López, J.I., Niño-Medina, G., Olivares-Sáenz, E., Lira-Saldivar, R.H., Barriga-Castro, E.D., Vázquez-Alvarado, R., and Zavala-García, F. 2019. Foliar application of zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate boosts the content of bioactive compounds in habanero peppers. *Plants*, 8(8), 254.
- García-López, J., Lira-Saldivar, R. H., Zavala-García, F., Olivares-Sáenz, E., Niño-Medina, G., Angélica Ruiz-Torres, N., and Díaz-Barriga, E. 2018. Effects of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant enzymes of *Capsicum chinense*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 100(5-7), 560-572.
- Genskowsky, E., Puente, L.A., Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J., Muñoz, L.A., and Viuda-Martos, M. 2016. Determination of polyphenolic profile, antioxidant activity and antibacterial properties of maqui [*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz] a Chilean blackberry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(12), 4235-4242.
- Gerson, E.A. and Kelsey R.G. 1999. Piperidine alkaloids in nitrogen fertilized. *J. Chem. Ecol.* 25:2027-2039.
- Gómez-García, M. D. R., and Ochoa-Alejo, N. 2013. Biochemistry and molecular biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum spp.*). *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 19025-19053.
- González de Peredo, A.V., Ferreiro-González, M., Barbero, G.F., Palma, M., Fayos, O., Espada-Bellido, E., and Vázquez-Espinosa, M. 2020. Changes in capsiate content in four chili pepper genotypes (*Capsicum spp.*) at different ripening stages. *Agronomy*.

- Halvin, J.L., Beaton, J.D. Tisdale, S.L. and Nelson, W.L. 2005. Soil fertility and fertilizers. 7th Ed. Pearson Education, Upper Saddle River, NJ.
- Harvell, P.K. and Bosland, P.W. 1997. The environment produces a significant effect on the pungency of chilies. *HortScience* 32:1292.
- Hernández, J.A., Ochoa, A. A., López, E., García, H.S. 2009. Extracción de capsaicinoides durante la deshidratación osmótica de chile Habanero en salmuera. *CyTA–Journal of Food*, 7(2), 127-134.
- Howard, L.R. and Wildman, R.E.C. 2007. Antioxidant vitamin and phytochemical content of fresh and processed pepper fruit (*Capsicum annuum*). In: Wildman REC (ed) Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. 2nd edn. CRC Press, Boca Raton. pp 165-91.
- Iqbal, Q., Amjad, M., Asi, M. R., Ariño, A., Ziaf, K., Nawaz, A., and Ahmad, T. 2015. Stability of Capsaicinoids and antioxidants in dry hot peppers under different packaging and storage temperatures. *Foods*, 4(2), 51-64.
- Iqbal, Q., Amjad, M., Asi, M. R., Nawaz, A., Khan, S. M., Ariño, A., and Ahmad, T. 2016. Irradiation maintains functional components of dry hot peppers (*Capsicum annuum* L.) under ambient storage. *Foods*, 5(3), 63.
- Iwai, K., Suzuki, T. Fujiwake, H. 1979. Formation and accumulation of pungent principle of hot pepper fruits, capsaicin and its analogs, in *Capsicum annuum* var *annuum* Cv Karayatsubusa at different growth-stages after flowering. *Agric Biol Chem* 43(12):2493-2498.
- Johnson, C.D. and Decoteau D.R. 1996. Nitrogen and potassium fertility affects Jalapeño pepper plant growth, pod yield, and pungency. *HortScience* 3:1119-1123.

- Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., and Lim, S.M. 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and nutrition research*, 61(1), 1361779.
- López Puc, Guadalupe, Rodríguez Rodríguez, Juan D., Ramírez Sucre, Manuel O., Rodríguez Buenfil, Ingrid M. 2020. Manejo agronómico y los factores que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas del cultivo de chile habanero. En *METABOLÓ*.
- López-Contreras, J.J., Zavala-Garcia, F., Urias-Orona, V., Martinez-Avila, G.C.G., Rojas, R., and Guillermo, N.M. 2015. Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(2), 366-370.
- López-Espinosa, S.T., Latournerie-Moreno, L., Castañón-Nájera, G., Ruiz-Sánchez, E., Gómez-Leyva, J.F., Andueza-Noh, R.H., and Mijangos-Cortés, J.O. 2018. Diversidad genética de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) mediante ISSR. *Revista fitotecnia mexicana*, 41(3), 227-236.
- Mansour, M.M.F. 2000. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biol. Plant.* 43:491-500.
- Mazourek, M., Pujar, A. Borovsky, Y. Paran, I. Mueller, L. and Jahn, M.M. 2009. A dynamic interface for capsaicinoid systems biology. *Plant Physiol* 150(4):1806-1821.
- Medina-Lara, F., Echevarría-Machado, I. Pacheco-Arjona, R. Ruiz-Lau, N. Adolfo Guzmán, A. and Martinez-Estevez, M. 2008. Influence of nitrogen and potassium fertilization on fruiting and capsaicin content in habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *HortScience* 43(5):1549-1554.

- Mendes, R.T., Resende, R.C., Pereira, A.M., Bento, R.U., Dias da Silva, R.C., Cruz, S.J.S., and Pelá, A. 2016. Foliar application of urea and bell pepper amino acids. *African Journal of Agricultural Research*, 11(19):1674-1678.
- Meraz, M.R., Cavazos, G.A., and Aguilar, R.M. 2018. Jaguar: cultivar de chile habanero para México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(2), 487-492.
- Muñoz-Ramírez, L.S., Peña-Yam, L.P., Álvarez-Gil, M.A., Iglesias-Andreu, L.G., Avilés-Viñas, S.A., Canto-Flick, A., and Santana-Buzzy, N. 2020. Selection of Habanero pepper F1 hybrids (*Capsicum chinense* Jacq.) at the Yucatan Peninsula, Mexico with a high potential for different markets. *Agriculture*, 10(10), 478.
- Nishida, I. 2004. Plastid metabolic pathways for fatty acid metabolism. *Molecular Biology and Biotechnology of Plant Organelles* 543-564.
- Ochoa-Alejo, J.N. and Gómez-Peralta, E. 1993. Activity of enzymes involved in capsaicin biosynthesis in callus tissue and fruits of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Plant Physiology* 141(2):147-152.
- Olguín-Rojas, J.A., Fayos, O., Vázquez-León, L.A., Ferreiro-González, M., Rodríguez-Jimenes, G.D.C., Palma, M., and Barbero, G.F. 2019. Progression of the total and individual capsaicinoids content in the fruits of three different cultivars of *Capsicum chinense* Jacq. *Agronomy*, 9(3), 141.
- Oney-Montalvo, J.E., Avilés-Betanzos, K.A., Ramírez-Rivera, E.D.J., Ramírez-Sucre, M. O., and Rodríguez-Buenfil, I.M. 2020. Polyphenols content in *Capsicum chinense* fruits at different harvest times and their correlation with the antioxidant activity. *Plants*, 9(10), 1394.
- Orellana-Escobedo, L., Garcia-Amezquita, L.E., Olivas, G.I., Ornelas-Paz, J.J., and Sepulveda, D.R. 2013. Capsaicinoids content and proximate composition of

Mexican chili peppers (*Capsicum* spp.) cultivated in the State of Chihuahua. *CyTA- Journal of Food*, 11(2), 179-184.

Padilha, H.K.M., Pereira, E.D.S., Munhoz, P.C., Vizzotto, M., Valgas, R.A., and Barbieri, R.L. 2015. Genetic variability for synthesis of bioactive compounds in peppers (*Capsicum annuum*) from Brazil. *Food Science and Technology*, 35, 516-523.

Pérez-Ambrocio, A., Guerrero-Beltrán, J.A., Aparicio-Fernández, X., Ávila-Sosa, R., Hernández-Carranza, P., Cid-Pérez, S., and Ochoa-Velasco, C.E. 2018. Effect of blue and ultraviolet-C light irradiation on bioactive compounds and antioxidant capacity of habanero pepper (*Capsicum chinense*) during refrigeration storage. *Postharvest Biology and Technology*, 135, 19-26.

Pinedo-Guerrero, Z.H., Hernández-Fuentes, A.D., Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., and Cadenas-Pliego, G. 2017. Cu nanoparticles in hydrogels of chitosan-PVA affects the characteristics of post-harvest and bioactive compounds of jalapeño pepper. *Molecules*, 22(6), 926.

Puc, G.L., SUCRE, M.O.R., y Buenfil, I.M.R. 2020. Manejo agronómico y los factores que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas del cultivo de chile habanero.

Ravishankar, G.A., Suresh, B. Giridhar, P. Rao, S.R. and Johnson, T.S. 2003. Biotechnology studies on *Capsicum* for metabolite production and plant improvement. In: De AK (ed) *Capsicum: The genus Capsicum*, vol 33. Medicinal And Aromatic Plants–Industrial Profiles. Taylor & Francis, Ltd., London. pp 96-128.

Ribes-Moya, A.M., Raigón, M.D., Moreno-Peris, E., Fita, A., and Rodríguez-Burruezo, A. 2018. Response to organic cultivation of heirloom *Capsicum* peppers: Variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening. *PLoS One*, 13(11), e0207888.

- Rodríguez de León, P.E. 2018. Determinación de capsaicinoides y compuestos fenólicos y su correlación con la capacidad de inhibición de α amilasa y α -glucosidasa en dos variedades de *Capsicum chinense* Jacq cultivadas en invernadero en el estado de Nuevo León (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Rodriguez-Uribe, L., Hernandez, L., Kilcrease, J. P., Walker, S., and O'Connell, M.A. 2014. Capsaicinoid and carotenoid composition and genetic diversity of Kas I and Ccs in New Mexican *Capsicum annuum* L. Landraces. HortScience, 49(11), 1370-1375.
- Romero-Lozada, M., Murillo, C.F.E., Garcia, S.M.S.M., Guerrero, J.J.W., Puentes-Páramo, Y.J., and Menjivar-Flores, J.C. 2016. Eficiencia de uso de nutrientes en ají tabasco (*Capsicum frutescens* L.) y habanero (*Capsicum chinense* Jacq). Revista de investigación agraria y ambiental, 7(2), 121-127.
- Ruiz-Lau, N., Medina-Lara, F., y Martínez-Estévez, M. 2011. El chile habanero: su origen y usos. *Ciencia*, 63(3), 70-76.
- Ryu, W.-K.; Kim, H.-W.; Kim, G.-D.; Rhee, H.-I. Rapid determination of capsaicinoids by colorimetric method. J. Food Drug Anal. 2017, 25, 798–803.
- Servicio de Información Agroalimentaria (SIAP). Anuario Estadístico de la Producción Agropecuaria 2020. Disponible en línea: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (consultado el 10 de mayo de 2021).
- Simonovska, J., Škerget, M., Knez, Ž., Srbinoska, M., Kavrakovski, Z., Grozdanov, A., and Rafajlovska, V. 2016. Physicochemical characterization and bioactive compounds of stalk from hot fruits of *Capsicum annuum* L. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 35(2), 199-208.

- Soria-Fregoso, M.J., Trejo-Rivero, J.A. Tun-Suarez, J.M. and Teran-Saldivar, R. 2002. Paquete tecnológico para la producción de chile habanero (*Capsicum chinense* Jack). Instituto Tecnológico de Mérida 2:3-74.
- Stewart, C.J., Mazourek, M. Stellari, G.M. O'Connell, M. and Jahn, M. 2007. Genetic control of pungency in *C. chinense* via the Pun1 locus. *J Exp Bot* 58 (5):979-991.
- Stewart, C.Jr., Kang, B.C. Liu, K. Mazourek, M. Moore, S.L. Yoo, E.Y. Kim, B.D. Paran, I. and Jahn, M.M. 2005. The Pun1 gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *Plant J* 42(5):675-688.
- Sukrasno, N. and Yeoman, M.M. 1993. Phenylpropanoid metabolism during growth and development of *Capsicum frutescens* fruits. *Phytochemistry* 32(4):839-844.
- Suzuki, T., Fujiwake, H. and Iwai, K. 1980. Intracellular localization of capsaicin and its analogues, capsaicinoid in *Capsicum* fruit. *Plant Cell Physiol* 21:839-853.
- Suzuki, T., Kawada, T. and Iwai, K. 1981. Biosynthesis of acyl moieties of capsaicin and its analogues from valine and leucine in *Capsicum* fruits. *Plant Cell Physiol* 22:23-32.
- Tanaka, Y., and Ohmiya, A. 2008. Seeing is believing: engineering anthocyanin and carotenoid biosynthetic pathways. *Current opinion in biotechnology*, 19(2), 190-197.
- Tanaka, Y., Nakashima, F. Kirii, E. Goto, T. Yoshida, Y. and Yasuba, K.I. 2016. Difference in capsaicinoid biosynthesis gene expression in the pericarp reveals elevation of capsaicinoid contents in chili peppers (*Capsicum chinense*). *Plant Cell Rep* 36:267-279.
- Thiele, R., Mueller-Seitz, E. and Petz, M. 2008. Chili pepper fruits: presumed precursors of fatty acids characteristic for capsaicinoids. *J. Agric. Food Chem* 56(11):4219-4224.

- Todd Jr, P.H., Bensinger, M.G., and Biftu, T. 1977. Determination of pungency due to capsicum by gas-liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 42(3), 660-665.
- Turturică, M., Oancea, A. M., Râpeanu, G., and Bahrim, G. 2015. Anthocyanins: Naturally occurring fruit pigments with functional properties. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI-Food Technology*, 39(1), 9-24.
- Urrea-López, R., Díaz de la Garza, R. and Valiente-Banuet, J. 2014. Effects of substrate salinity and nutrient levels on physiological response, yield and fruit quality of habanero pepper. *HortScience* 49(6):812-818.
- Vázquez-Flota, F., de Lourdes Miranda-Ham, M., Monforte-González, M., Gutiérrez-Carbajal, G., Velázquez-García, C., and Nieto-Pelayo, Y. 2007. La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 353-360.
- Velasco-Velasco, V.A., Alcántar-González, G. Sánchez-García, P. Estañol-Botello, E. Zavaleta-Mejía, E. Cárdenas-Soriano, E. Rodríguez-Montessoro, R. y Martínez-Garza, A. 2001. Efecto de N, P y K en plantas de chile jalapeño infectadas con el virus jaspeado del tabaco. *Terra* 19:117-125.
- Wahyuni, Y., Ballester, A.R. Sudarmonowati, E. Bino, R.J. and Bovy, A.G. 2013. Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. *J Nat Prod* 76(4):783-793.
- Wang, J., Peng, Z. Zhou, S. Zhang, J. Zhang, S. Zhou, X. Zhang, X. and Peng B. 2011. A study of pungency of capsaicinoid as affected by their molecular structure alteration. *Pharmacol Pharm* 2(3):109-115.
- WEISS, E. A. *Spice crops*. New york: CABI Publishing International, 2002.

Zachariah, T.J. and Gobinath, P. 2008. Paprika and chilli. In: Parthasarathy VA, chempakam B, zachariah TJ (eds) chemistry of spices. CAB International, London UK. pp 260-286.

Zewdie, Y. and Bosland, P.W. 2000. Evaluation of genotype, environment, and genotype-byenvironment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. Euphytica 111:185-190.

Zi-Xin, Z., Shu-Niu, Zhao. Gao-Feng, Liu. Zu-Mei, H. Zhen-Mu, C. Shan-Han, C. and Shi-Sen, L. 2016. Discovery of putative capsaicin biosynthetic genes by RNA-Seq and digital gene expression analysis of pepper. Scientific Reports 6:3412.